

PAT-NO: JP402100647A
DOCUMENT-IDENTIFIER: JP 02100647 A
TITLE: PRODUCTION OF FRIED BEAN CURD
PUBN-DATE: April 12, 1990

INVENTOR-INFORMATION:

NAME

SOEDA, TAKAHIKO
NONAKA, MASAHIKO
TAKAGI, NOBUMASA
KAWAJIRI, HIDEO
KOBATA, HIROKO

ASSIGNEE-INFORMATION:

NAME

AJINOMOTO CO INC

COUNTRY

N/A

APPL-NO: JP63253478

APPL-DATE: October 7, 1988

INT-CL (IPC): A23L001/20

US-CL-CURRENT: 426/46

ABSTRACT:

PURPOSE: To obtain a fried bean curd at a high expansion rate, readily openable between both outer coverings and having a high mechanical strength by adding a specific amount of a transglutaminase or further a coagulant to a soybean milk liquid, processing the resultant coagulated substance into a fried bean curd dough and frying the dough in an oil.

CONSTITUTION: A transglutaminase in an amount of 0.1-10u, preferably 1-5u based on 1g proteins in a soybean milk liquid or, together with a coagulant, is

added to the soybean milk liquid at $\leq 80^{\circ}\text{C}$, preferably $40-70^{\circ}\text{C}$ temperature and the resultant protein coagulated substance is processed into a fried bean curd dough and fried in an oil to afford a fried bean curd suitable for 'INARI- ZUSUI' (vinegared rice ball wrapped up in a bag of fried bean curd seasoned with sugar and soy sauce).

COPYRIGHT: (C)1990, JPO&Japio

⑫ 公開特許公報(A) 平2-100647

⑤Int.Cl.⁵

識別記号

庁内整理番号

⑬公開 平成2年(1990)4月12日

A 23 L 1/20

108 Z

7823-4B

審査請求 未請求 請求項の数 2 (全11頁)

⑭発明の名称 油揚げの製造方法

⑯特 願 昭63-253478

⑰出 願 昭63(1988)10月7日

⑱発明者 添田 孝彦 神奈川県川崎市川崎区鈴木町1番1号 味の素株式会社中央研究所内
 ⑱発明者 野中 雅彦 神奈川県川崎市川崎区鈴木町1番1号 味の素株式会社中央研究所内
 ⑱発明者 高木 伸昌 神奈川県川崎市川崎区鈴木町1番1号 味の素株式会社中央研究所内
 ⑱発明者 川尻 秀雄 神奈川県川崎市川崎区鈴木町1番1号 味の素株式会社中央研究所内
 ⑲出願人 味の素株式会社 東京都中央区京橋1丁目5番8号
 ⑳代理人 弁理士 川口 義雄 外3名
 最終頁に続く

明 細 書

ことを特徴とする油揚げの製造法。

1. 発明の名称

3. 発明の詳細な説明

油揚げの製造法

(産業上の利用分野)

2. 特許請求の範囲

本発明は、植物蛋白にトランスグルタミナーゼを作用させる工程を含む方法により油揚げ生地を製造し、この生地を油燻して油揚げを製造する方法に関する。

(1) 豆乳液に80℃以下にて豆乳蛋白 1g当りトランスグルタミナーゼ 0.1~10uを単独に又は豆乳蛋白 1g当りトランスグルタミナーゼ 0.1~10uと凝固剤とを併用して作用させて蛋白凝固物を製造し、得られた凝固物を油揚げ生地に加工し、この生地を油燻することを特徴とする油揚げの製造法。

(従来技術、発明が解決しようとする問題点)

(2) 蛋白含量が45重量%以上である植物蛋白に植物蛋白 1g当りトランスグルタミナーゼ 0.1~10u及び植物蛋白 1重量部に対し水 1.5~4.0重量部並びに所望により食用油 0.1~1.0重量部を添加混練して蛋白乳化物を製造し、得られた乳化物を油揚げ生地に成型加工し、この生地を油燻する

油揚げの製造法に関する特許出願は数多くみられるが、なお問題点として、油燻時の膨化が少なくしかも均一に行なわれないことに起因するサイズのばらつきが大きいこと、油揚げの中心部に豆腐層の芯が形成され難く、このため内材となるべき豆腐層としての品質が著しく劣り、イナリ寿司用として中心から裂こうとしても両外皮間が裂けにくく破けてしまいやすいこと、などがあげられる。

(問題点を解決するための手段、発明の効果)

本発明者は、上記問題を解決すべく鋭意研究の結果、植物蛋白にトランスグルタミナーゼを作用させる工程を含む方法により油揚げ生地を製造し、この生地を油燻して油揚げを製造すれば、得られる油揚げは、膨化の割合が大きくしかもサイズのばらつきも小さく、また、中心に豆腐の層を多く残すため両外皮間を容易に開くことができ、かつ機械的強度が大であって破けにくいのでイナリ寿司用として優れていることを見出し、この知見に基づき本発明を完成した。

以下、本発明の方法を、その実施態様に分けて、逐次説明する。

大豆を原料とし、これより豆乳液を製造し、これに凝固剤を作用させて蛋白凝固物を製造し、この凝固物を油揚げ生地に加工し、この生地を油燻して油揚げを製造する方法は当業者に周知であっ

乳液に作用させて蛋白凝固物を得ることである。

そこで、これを中心にして詳しく説明する。

本発明で使用するトランスグルタミナーゼは、特に起源を問わず、例えばモルモットの肝臓から分離したもの(以下、MTGaseと略記することがある)、微生物が産生するもの(以下、BTGaseと略記することがある)を挙げることができる。前者のMTGaseは、例えば、特開昭58-14964号に記載の方法で調製することができる。後者のBTGaseは、新規酵素であって、本発明者の一部が発明者として関与した発明(特願昭62-165067)に係わるもので、その酵素特性、製造法等については別項に記載する。

凝固処理条件は、次の通りである。

- i) 豆乳液蛋白濃度：3～10%、好ましくは4～7%、
- ii) TGase濃度：0.1～10u/g蛋白、好

て、その製造工程の概要は例えば、次のようにあらわすことができる(太田静行他著「フライ食品の理論と実際」(株)幸村房~~共~~昭和51年)第260頁参照)。

(丸大豆)－水浸漬－磨砕－消泡剤及び水添加－加熱－おから除去－(豆乳液)－凝固剤添加－(蛋白凝固物)－ゆとり－箱盛－押し－箱出し－切断－油燻(二段フライ)－冷却－(製品)

本発明の第1の実施態様は、上記製造工程に準ずるものである。因みに、上記製造工程中、大豆から蛋白凝固物を得るまでの工程が大豆を原料とする豆腐の製造法に準ずることは、これまた当業者に周知のことである。

本発明のこの実施態様が上記製造工程と本質的に異なるところは、トランスグルタミナーゼ(以下、TGaseと略記することがある。)を、従来の凝固剤に代えて又は従来の凝固剤と共に、豆

ましくは1～5u/g蛋白、

- iii) TGaseと併用する場合の凝固剤：一般に豆腐調製に用いられるもの全て、例えば磷酸カルシウムの各種水和物、塩化カルシウム、塩化マグネシウム、天然ニガリ、グルコノデルタラクトン(GDL)等の凝固剤を従来量で例えば濃度0.1～5%となるように添加使用、
- iv) 凝固温度：TGaseの作用温度を考慮して80℃以下、好ましくは40～70℃、
- v) 凝固反応の時間：1分～3時間、好ましくは5～6分。

凝固剤は、使用しなくてもよいが、TGaseと併用する方が生地成型のしやすさの点から好ましい。

TGaseの使用量は、上記のように0.1～10u/g豆乳蛋白の範囲内である。0.1u以下では

得られる油揚げはT G a s eを使用しない場合と
差がなく、10u以上では膨化が抑制され、得られ
る油揚げはかたく、クッキー様となり不適である。

T G a s eがM T G a s eのように特定物質依
存性の場合は、その物質をT G a s eと共存させ
ることはもちろんである。

なお、凝固処理時に本発明の効果を阻害しない
範囲で従来豆腐の調製に使用されている乳化剤等
の各種添加物を加えてもよいことは勿論である。

蛋白凝固物を油揚げ生地に加工するのは、従来
法でよい。

油揚げは二段フライによる。第一段目は、生地を
膨化させるためのもので、約95～110℃で約4～
8分保持することにより、第二段目は、膨化状態
を固定するためのもので、第一段目より高温です
なわち約170～200℃で約5～8分保持すること
により行なう。

油揚げ生地とし、この生地を上記の二段フライに
より油揚げするものである。この混練物に食用油を
も加えるのが油揚げ時の膨化のしやすさの点から好
ましい。

植物蛋白は、その蛋白含量が45重量%以上であ
るものが操作性及び膨化の点から好ましい。本発
明で使用できる植物蛋白としては分離大豆蛋白、
濃縮大豆蛋白、抽出大豆蛋白、脱脂大豆蛋白等の
大豆系、バイタルグルテン^テ等の小麦系などを例示
することができる。

水の使用量は、植物蛋白1重量部に対し、1.5
～4.0重量部、好ましくは2.5～3.5重量部であ
る。水の使用量がすくな過ぎると生地成型時の操
作がかたすぎて困難となり、多過ぎると生地が
だれて困難となる。

食用油を使用する場合は、その使用量は、植物
蛋白1重量部に対して0.1～1.0重量部、好まし

第2の実施態様は、第1の実施態様における大
豆を直接原料とする豆乳液の代りに全脂豆乳粉末、
又は分離大豆蛋白、濃縮大豆蛋白、脱脂大豆蛋白、
抽出大豆蛋白等の大豆蛋白を原料として調製され
る豆乳液を使用するもので、これ以外は全て第1
の実施態様の製造工程と同じでよい。

全脂豆乳粉末から調製される豆乳液は、豆乳粉
末に加水し(7～15倍量、好ましくは9～11倍量)、
加熱・攪拌し(2～10分かけて100℃近辺とし、そ
のまま2～10分保つ)、放冷することによって得
ることができる。また、大豆タンパクから調製さ
れる豆乳液は、タンパク含量例えば45%以上の大
豆タンパクに水、例えば植物油等の油脂、必要に
応じてデンプン、及び各種乳化剤を加えて乳化、
加熱することによって得ることができる。

第3の実施態様は、トランスグルタミナーゼを
加えた、植物蛋白と水との混練物を成型加工して

くは0.2～0.5重量部である。使用量がすくな過
ぎるとフライ物は^{ザラ}ザラとなり、多過ぎるとフニ
ャフニャとなる。食用油としては、パーム油、ラ
ード等の固形油又は大豆油、ナタネ油、コーン油、
ひまわり油、オリーブ油更にはサラダ油等の液体
油脂を用いることができる。

トランスグルタミナーゼの使用量は、植物蛋白
1g当たり0.1～10u、好ましくは1～5uである
ことは、実施態様1に関して前述したところと同
様である。

上記原料すなわち植物蛋白、水、所望による食
用油、及びT G a s eの混練は、通常の畜肉加
工食品製造工程に用いられるものでよく、サイレ
ントカッター、ニーダーなどの混練機を用いるこ
とができる。例えば、サイレントカッターを用い
る時には1500rpm程度では10～30分、3000rpm程
度では7～15分混練すれば充分である。この混練

時に、正油、グルタミン酸ソーダなどの調味料または香辛料などを、品質に影響を及ぼさない範囲内で添加することも可能である。

混練して得られた蛋白乳化物の油揚げ生地への成型加工は、次のように行なう。まず、蛋白乳化物を適当な厚さ例えば、約5mm、適当なサイズ、形状に成型する。ついで、この成型物を常温乃至60℃程度で30分乃至3時間程度坐わらせる。こうすることによって、膨化が容易となる。

このようにして成型加工して得られる油揚げ生地を油燻する。油燻は、前述の実施態様に関して説明したと同じ二段フライにより行なう。

因みにTGaseを使用しないこと以外は同様の原料を用いて類似の方法で油揚げを製造する方法が特公開58-42751号明細書に開示されているが、この方法によって得られる油揚げの品質は未だ十分とは云い難い。

れているが、動物由来のものは、安価にまた大量に入手するのが困難であり、タンパク質をゲル化するときには酵素濃度および基質濃度を共に高くする必要があり、また Ca^{2+} 依存性であるので用途が制限される。

本発明で使用できる新規トランスグルタミナーゼ(BTGase)は、微生物、例えば、ストレプトベルチシリウム属の菌により産生されるものであるが、微生物由来のTGaseについての報告は現時点ではない。

本発明で使用できる微生物由来のBTGaseは安価に供給され、かつ精製も容易であるので実用性が大である。また、BTGaseを用いることにより、カルシウム非存在下又カルシウム存在下のいずれでも酵素(BTGase)濃度及び基質濃度が非常に低いところから品質の優れたゲル化物を製造できるという利点がある。

(新規トランスグルタミナーゼBTGase)

(1)トランスグルタミナーゼとその由来

トランスグルタミナーゼ(TGase)は、ペプチド鎖内にあるグルタミン残基の α -カルボキシアミド基のアシル転移反応を触媒する酵素である。このTGaseは、アシル受容体としてタンパク質中のリジン残基の ϵ -アミノ基が作用すると、分子内及び分子間に ϵ -(γ -Glu)-Lys架橋結合が形成される。また水がアシル受容体として機能するときは、グルタミン残基が脱アミド化されグルタミン酸残基になる反応を進行させる酵素である。

TGaseのこのような性質により、TGaseを用いてタンパク含有溶液又はスラリーをゲル化させることができる。

TGaseは、これまでモルモット肝由来のもの(MTGase)などの動物由来のものが知ら

(2)BTGaseの製造

BTGaseを産生する微生物は、例えば、ストレプトベルチシリウム・グリセオカルネウム(*Streptovercillium griseocarneum*) IFO 12776、ストレプトベルチシリウム・シナモネウム・サブ・エスピー・シナモネウム(*Streptovercillium cinnamoneum* sub sp. *cinnamoneum*) IFO 12852、ストレプトベルチシリウム・モバラエンス(*Streptovercillium mobaraense*) IFO 13819等があげられる。

これら微生物を培養し、トランスグルタミナーゼを取得するための培養法及び精製法等は次の通りである。

培養形態としては、液体培養、固体培養いずれも可能であるが、工業的には深部通気攪拌培養を行うのが有利である。又、使用する培養源としては、一般に微生物培養に用いられる炭素源、窒素

源、無機塩及びその他の微量栄養源の他、ストレプトバチシリウム属に属する微生物の利用出来る栄養源であれば全て使用出来る。培地の炭素源としては、ブドウ糖、ショ糖、ラクターゲン、グリセリン、デキストリン、澱粉等の他、脂肪酸、油脂、有機酸などが単独で又は組合せて用いられる。窒素源としては、無機窒素源、有機窒素源のいずれも使用可能であり、無機窒素源としては硝酸アンモニウム、硫酸アンモニウム、尿素、硝酸ソーダ、塩化アンモニウム等が挙げられる。又、有機窒素源としては大豆、米、トウモロコシ、小麦などの粉、糖、脱脂粕をはじめコーンステイプリカー、ペプトン、肉エキス、カゼイン、アミノ酸、酵母エキス等が挙げられる。無機塩及び微量栄養素としては、リン酸、マグネシウム、カリウム、鉄、カルシウム、亜鉛等の塩類の他ビタミン、非イオン界面活性剤、消泡剤等の菌の生育や

ろ過、吸着剤、等電点分離等の方法が使用出来る。又、これらの方法を適当に組合せる事によりBTGaseの精製度が上がる場合は適宜組合せて行う事が出来る。これらの方法によって得られる酵素は、安定化剤として各種の塩類、糖類、蛋白質、脂質、界面活性剤等を加え或いは加えることなく、限外ろ過濃縮、逆浸透濃縮、減圧乾燥、凍結乾燥、噴霧乾燥の方法により液状又は固形のBTGaseを得ることが出来る。

BTGaseの活性測定はベンジルオキシカルボニル-L-グルタミルグリニンとヒドロキシルアミンを基質として Ca^{2+} 非存在下で反応を行い、生成したヒドロキサム酸をトリクロロ酢酸存在下で鉄錯体を形成させ525nmの吸収を測定し、ヒドロキサム酸の量を検量線より求め活性を算出する。

BTGase活性は、特に記載しないかぎり以

BTGaseの産生を促進するものであれば必要に応じて使用出来る。

培養は好氣的条件で、培養温度は菌が発育しBTGaseが産生する範囲であれば良く、好ましくは25~35℃である。培養時間は、条件により異なるが、BTGaseが最も産生される時間まで培養すれば良く、通常2~4日程度である。

BTGaseは液体培養では培養液中に溶解されており、培養終了後培養液より固形分を除いた培養ろ液より採取される。

培養ろ液よりBTGaseを精製するには、通常酵素精製に用いられるあらゆる方法が使用出来る。

例えば、エタノール、アセトン、イソプロピルアルコール等の有機溶媒による処理、硫酸、食塩等により塩析、透析、限外ろ過法、イオン交換クロマトグラフィー、吸着クロマトグラフィー、ゲ

下に記載する方法により測定した。

〈活性測定法〉

試薬A 0.2Mトリス塩酸緩衝液 (pH 6.0)
0.1Mヒドロキシルアミン
0.01 M還元型グルタチオン
0.03 Mベンジルオキシカルボニル-L-グルタミルグリニン

試薬B 3N-塩酸
12%-トリクロロ酢酸
5% $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0.1N-HClに溶解)

上記溶液の1:1:1の混合液を試薬Bとする。

酵素液の0.05mlに試薬A 0.5mlを加えて混合し37℃で10分間反応後、試薬Bを加えて反応停止とFe錯体の形成を行った後525nmの吸光度を測定する。対照としてあらかじめ熱失活させた酵素液

を用いて同様に反応させたものの吸光度を測定し、酵素液との吸光度差を求める。別に酵素液のかわりにL-グルタミン酸γ-モノヒドロキシサム酸を用いて検量線を作成し、前記吸光度差より生成されたヒドロキシサム酸の量を求め、1分間に1μモルのヒドロキシサム酸を生成する酵素活性を1単位とした。

③ BTGase の酵素特性

上のようにして得られる精製 BTGase、即ちストレプトベチシリウム・モバランス IFO 13819 のトランスグルタミナーゼ (BTG-1 と命名)、ストレプトベルチシリウム・グリセオカルネウム IFO 12776 のトランスグルタミナーゼ (BTG-2 と命名)、ストレプトベルチシリウム・シナモネウム・サブ・エスビー・シナモネウム IFO 12852 のトランスグルタミナーゼ (BTG-3 と命名) についての酵素化学的性質は次の

で安定であり、BTG-2 は pH 5~9 で安定であり、BTG-3 は pH 6~9 で安定である。

d) 温度安定性：

pH 7 で10分間処理では、BTG-1 は40℃では88%活性が残存し、50℃では74%活性が残存し、BTG-2 は40℃では86%活性が残存し、50℃では56%活性が残存し、BTG-3 は40℃で80%活性が残存し、50℃では53%活性が残存する。

e) 基質特異性：

各 BTGase を用い、各種合成基質とヒドロキシルアミンとの反応を調べた。いずれの BTGase も合成基質がベンジルオキシカルボニルアスパラギニルグリシン、ベンジルオキシカルボニルグルタミン、グリシルグルタミルグリシンの場合反応しない。しかし合成基質がベンジルオキシカルボニルグルタミルグリシンの場合の反応性は最も高い。この時の各種合成基質濃度は

通り。

a) 至適 pH：

基質としてベンジルオキシカルボニル-L-グルタミルグリシンとヒドロキシルアミンを使用した場合、37℃、10分反応で、BTG-1 の至適 pH は 6~7 にあり、BTG-2 の至適 pH は 6~7 付近にあり、BTG-3 の至適 pH は 6~7 付近にある。

b) 至適温度：

基質としてベンジルオキシカルボニル-L-グルタミルグリシンとヒドロキシルアミンを使用した場合、pH 6、10分反応で、BTG-1 の至適温度は55℃付近であり、BTG-2 の至適温度は45℃付近であり、BTG-3 の至適温度は45℃付近にある。

c) pH 安定性：

37℃、10分間処理で、BTG-1 は pH 5~9

5 mM とした。結果は表-1 に示される。

なお、表-1 中の CBZ はベンジルオキシカルボニル基の略であり、Gln はグルタミル基の略であり、Gly はグリシル基の略であり、Asp はアスパラギニル基の略である。

表-1

基 質	BTG-1	BTG-2	BTG-3
	%	%	%
CBZ-Gln-Gly	100	100	100
CBZ-Gln-Gly-oEt	63	44	42
CBZ-Gln-Gln-Gly	38	39	35
CBZ-Gly-Gln-Gly-Gly	8	12	11
CBZ-Gly-Gly-Gln-Gly	23	58	60
CBZ-Gln	0	0	0
CBZ-Asp-Gly	0	0	0
Gly-Gln-Gly	0	0	0

f) 金属イオンの影響:

活性測定系に 1 mM 濃度になるように各種金属イオンを加えて影響を調べた(結果は表-2に示される)。いずれの BTGase も Cu^{2+} 、 Zn^{2+} により活性が阻害される。

表-2

金属イオン	BTG-1	BTG-2	BTG-3
	%	%	%
None	100	100	100
CaCl_2	101	102	102
BaCl_2	101	99	105
CoCl_2	103	103	103
CuCl_2	79	82	86
FeCl_3	96	104	106
KCl	96	99	105
MgCl_2	102	104	103
MnCl_2	98	97	97
NaCl	99	102	101
NiCl_2	102	100	101
$\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$	97	97	100
SrCl_2	100	101	100
ZnCl_2	15	24	24

g) 阻害剤の影響:

各阻害剤を 1 mM になるように加え、25℃、30分放置後、活性を測定した(結果は表-3に示される)。いずれの BTGase もパラクロロマーキュリー安息香酸(PCMBと略する)、N-エチルマレイミド(NEMと略する)、モノヨード酢酸により活性が阻害される。

表-3中PMSFはフェニルメチルスルホニルフルオリドの略である。

h) 等電点:

アンホライン等電点電気泳動により求めたところ、BTG-1の等電点 pI は 9 付近であり、BTG-2の等電点 pI は 9.7 付近であり、BTG-3の等電点 pI は 9.8 付近である。

i) 分子量:

SDSディスク電気泳動法より求めたところ、BTG-1の分子量は約38,000であり、BTG-2の分子量は約41,000であり、BTG-3の分子量は約41,000である。

j) MTGaseとの比較:

次にBTGaseとモルモット肝由来のトランスグルタミナーゼ(MTGase)との性質を比較する。尚、MTGaseは、特開昭58-149645号に記載された方法で調製した。

表-3

阻 害 剤	BTG-1	BTG-2	BTG-3
	%	%	%
None	100	100	100
EDTA	102	98	99
PCMB	54	61	63
NEM	5	5	3
モノヨード酢酸	64	50	67
PMSF	104	95	101

表-4には各酵素化学的性質の比較を、表-5には Ca^{2+} の活性に及ぼす影響を示す。表-4および表-5より明らかなように従来主として研究されているMTGaseと放線菌由来のBTGaseとは酵素化学的性質において種々の差が見られ、特に温度安定性、分子量、等電点、基質特異性に差が見られる。また、 Ca^{2+} の存在下及び非存在下においてもBTGaseは作用する点等でもMTGaseとは明らかな差がみられる。従って、BTGaseの各酵素はMTGaseとはその性質を異にするものと考えられる。

表-4

	BTG-1	BTG-2	BTG-3	MTGase
至適 pH	6~7	6~7	6~7	6
pH安定性	5~9	5~9	6~9	6~7.5
至適温度	55℃付近	45℃付近	45℃付近	50~55℃
温度安定性(%)				
40℃残存率	88	86	80	96
50℃残存率	74	56	53	40
分子量	約38,000	約41,000	約41,000	約90,000
等電点	9.0	9.7	9.8	4.5
基質特異性(%)				
CBZ-Gln-Gly	100	100	100	100
CBZ-Gln-Gly-OEt	63	44	42	122
CBZ-Gln-Gln-Gly	38	39	35	288
CBZ-Gly-Gln-Gly-Gly	8	12	11	126
CBZ-Gly-Gly-Gln-Gly	23	58	60	27

表-5

金属イオン	BTG-1	BTG-2	BTG-3	MTGase
	%	%	%	%
None	99	98	100	0
1mM CaCl_2	100	100	99	39
5mM CaCl_2	100	100	98	100

(4) BTGaseの製造例

a) BTG-1の製造

ストレプトペルチシリウム・モバラエンス IF O 13819を培地組成ポリペプトン 0.2%、グリコース 0.5%、リン酸二カリウム 0.2%、硫酸マグネシウム 0.1%からなる培地(pH 7) 200mlに接種し、30℃、48時間培養し、得られた種培養液をポリペプトン 2.0%、ラスターゲン 2.0%、リン酸二カリウム 0.2%、硫酸マグネシウム 0.1%、酵母エキス 0.2%、消泡剤としてアデカノール(商品名、旭電化社製品) 0.05%からなる培地 20

ml (pH 7)に加え30℃で3日間培養後ろ過し、培養液 18.5 l 得た。このものの活性は、0.35u/mlである。

培養液を塩酸で pH 6.5 に調整し、予め0.05Mリン酸緩衝液(pH 6.5)で平衡化しておいたCG-50(商品名、オルガノ社製品)のカラムに通した。この操作でトランスグルタミナーゼは吸着された。さらに同緩衝液で不純蛋白質を洗い流した後、さらに0.05~0.5 Mの同緩衝液の濃度勾配をつくり、通液して溶出液を分画回収し、比活性の高い分画を集めた。電導度を10ms以下になるように希釈後ブルーセファロースのカラムに通した。この操作でトランスグルタミナーゼは吸着された。更に0.05Mリン酸緩衝液(pH 7)で不純蛋白質を洗い流した後、0~1 Mの食塩濃度勾配をつくり通液して溶出液を回収し比活性の高い画分を集めた。UF 6000膜を使い濃縮し、0.5Mの食塩を含む0.05

Mリン酸緩衝液(pH7)で緩衝液を用いて平衡化させた。

得られた濃縮液を同緩衝液で予め平衡化しておいたセファデックスG-75(ファルマシアファインケミカル社製)を含むカラムに通し、同緩衝液を流して溶出液を分画した。この結果活性画分は単一のピークとして溶出された。このものの比活性は、培養液に対し625倍であり、回収率は47%であった。

b) BTG-2の製造

BTG-1の場合と同様にして、ストレプトペルチシリウム・グリセオカルネウムIFO 12776を30℃で3日間培養後ろ過し、培養液19ℓを得た。このものの活性は0.28u/ℓであった。

BTG-1の場合と同様な方法で酵素を精製して、SDSディスク電気泳動で単一の酵素をえた。

せた。

ついで凝固物の温度を50℃に下げ、凝固物を型箱に移し、上澄(ゆ)の大部分を適量なおもしをかけて除去した。このようにして得られた豆腐の水分は86%であった。次に、豆腐をタテ40mm、ヨコ40mm、厚さ約5mmに切断し、さらに布の間にはさんで軽く押して、さらに水を取り、最終的に水分約75%の油揚げ生地とした。

このようにして調製した油揚げ生地50片をそれぞれまず100℃の大豆油の中に投入し、生地が浮き上がってから5分間くらい揚げて膨化させ、ついで、180℃の油に移して約8分間処理して膨化状態を固定するとともに表面の水分を蒸散させた。このようにして50片の油揚げを製造した。

比較のために、BTGaseを使用しないこと以外は全く同様にして油揚げを製造した(対照)。

本発明の方法によって得られた油揚げは、一般

c) BTG-3の製造

BTG-1の場合と同様にして、ストレプトペルチシリウム・シナモネウム・サブ・エスピー・シナモネウムIFO 12852を30℃で3日培養後ろ過し、培養液18.5ℓを得た。このものの酵素活性は0.5u/ℓであった。

BTG-1の場合と同様な方法で酵素を精製して、SDSディスク電気泳動で単一の酵素を得た。

以下、本発明を実施例により更に説明する。

実施例1

丸大豆2kgを原料とし、常法により豆乳液約20kgを得た(蛋白質濃度は約4%)。この豆乳液を100℃に加熱した後、少量の冷水を加え約70℃に冷却した。

ついで、硫酸カルシウムを45g及びBTG-1(比活性が2u/gのもの)を1u/g蛋白を加え、攪拌して(70℃、30分)、豆乳蛋白を凝固さ

に、対照の油揚げに較べて、生地に対する膨化割合が有意に大きくしかもサイズのばらつきが小さく、豆腐様の芯が残り、はりがあって食感良好で、高品質のものであった。

又、硫酸カルシウムを使用せず、BTGaseのみで凝固させた場合に得る油揚げについても上述のものと比較した。

これらの結果は表-6に示した。

表-6

凝固法	油揚げ面積(㎡)	面積のバラツキ%	内蔵豆腐(芯)	コメント
BTGase+凝固剤	4355	± 3.0	+	表面はうすくなるが強く、破れにくい。かつ、豆腐芯多い。
BTGase	4025	± 4.8	+	表面はうすいが、破れにくい。
凝固剤	3840	± 5.5	±	表面は厚いが、ソフトで破れやすい。又、豆腐芯少ない。

(*)：膨化度は面積(タテ×ヨコ)で示す。油揚げ前の生地は40×40=1600㎡である。

実施例 2

分離大豆蛋白（味の素（株）製「アジプロン－SY」、蛋白含量87%）を 100g、大豆油を50g、水を 350g 及び BTG－1（比活性が2u/㍑のもの）を90uをサイレントカッターで1500rpmで10分間混練して蛋白乳化物を得た。

この蛋白乳化物をタテ40mm、ヨコ40mm、厚さ 5mmに成型し、10℃で1時間坐らせて油揚げ生地とした。

この生地20片をそれぞれ大豆油を用いて二段フライにより油揚げした。第1段目は 105℃で 5分、第2段目は 190℃で 6分であった。

比較のために、BTGaseを使用しないこと以外は全く同様にして油揚げを製造した（対照）。

本発明の方法によって得られた油揚げは、対照の油揚げに較べて、生地の膨化の割合が著しく大きく（タテ、ヨコ各 2.9倍に膨化したのに対し、

BTG－1（比活性が2u/㍑のもの）を92uをとり、蛋白乳化物^(E)形成した後実施例2と同様にして油揚げ生地を作成し、油揚げして油揚げを製造した。

比較のために、BTGaseを使用しないこと以外は全く同様にして油揚げを製造した。

本発明の方法によるときは、油揚げの際の生地の膨化が大きく（2.1倍）しかも均一であったのに対し、対照方法によるときは膨化は殆んどみられなかった。又、本発明方法による油揚げは豆腐様の芯を有し、外観、食感とも油揚げらしかったのに対し、対照油揚げは豆腐様の芯は残っており、外観はクッキー様で、食感のかたくもろいものであった。

対照の油揚げはタテ、ヨコ各 2.6倍膨化したに過ぎない。）、また、BTGaseを使用したものはサイズのばらつきが± 3.5%と小さく、豆腐様の芯が残り、より油揚げらしい外観を有し、また官能検査の結果食感も良好であるとの評価を得た。

実施例 3

大豆油を使用しないこと以外は実施例2と同様にして油揚げを製造した。

この油揚げは、大豆油を使用した実施例2の油揚げと比較して、膨化は小さかったが、表面は強度が強いものであった。

また、大豆油もBTGaseも使用せずに製造した油揚げと比較して、膨化し、なめらかでのごしが優れていた。

実施例 4

豆乳粉末（日本タンパク工業社製「ハイプロトン」、蛋白含量46%）を 200g、水を 300g 及び

第1頁の続き

⑦発明者 木 幡 浩 子 神奈川県川崎市川崎区鈴木町1番1号 味の素株式会社中央研究所内